

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/FR05/000197

International filing date: 31 January 2005 (31.01.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: FR  
Number: 0400987  
Filing date: 03 February 2004 (03.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 01 April 2005 (01.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



PCT/FR 2005 / 000 197

# BREVET D'INVENTION

**CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 04 FEV. 2005

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr





26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

► N° Indigo 0 825 83 85 87  
0,15 € TTC/mn

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*03

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 @ W / 030103

<b>REMISE DES PIÈCES</b> DATE <b>75 INPI PARIS 34 SP</b> LIEU <b>0400987</b> N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>03 Fev 04.</b>		<b>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</b>  CABINET LOYER 78 avenue Raymond Poincaré 75116 Paris	
<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b> A033706 MGLC			
<b>Confirmation d'un dépôt par télécopie</b>		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
<b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b>		<b>Cochez l'une des 4 cases suivantes</b>	
Demande de brevet <input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>		N° _____ Date _____ N° _____ Date _____	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<input type="checkbox"/> N° _____ Date _____	
<b>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b>  "Gel réticulé biocompatible"			
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
<b>5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)</b>		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF Domicile ou siège Nationalité N° de téléphone (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		ANTEIS SA S.A. chemin des Aulx 18 c/o Fondation Genevoise pour l'innovation Technologique FONGIT 1228 PLAN-LES-OUATES, Genève Suisse Suisse N° de télécopie (facultatif)	
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE  
page 2/2

**BR2**

3 FEV 2004  
REMISE DES PIÈCES  
DATE 75 INPI PARIS 34 SP  
LIEU 0400987  
N° D'ENREGISTREMENT  
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 210502

<b>6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)</b>	
Nom	LAGET
Prénom	Jean-Loup
Cabinet ou Société	CABINET LOYER
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel	
Adresse	Rue 78, avenue Raymond Poincaré
	Code postal et ville 75 116 PARIS
	Pays France
N° de téléphone (facultatif)	01 45 02 60 00
N° de télécopie (facultatif)	01 45 02 60 99
Adresse électronique (facultatif)	courrier@cabinet-loyer.fr
<b>7 INVENTEUR (S)</b>	
Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques	
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes	<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>	
Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé	<input checked="" type="checkbox"/>
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)	Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
<input type="checkbox"/> RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES	Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG
<b>10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS</b>	
Le support électronique de données est joint	<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe	<input type="checkbox"/>
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes	
<b>11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) JL. LAGET CPI N° 92-1134	
VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI L. GUICHET	

La présente invention concerne un procédé de fabrication d'un gel réticulé biocompatible, ledit gel et l'utilisation dudit gel pour constituer une matrice comportant au moins un principe actif dispersé ou pour séparer, combler des tissus biologiques ou augmenter le volume desdits tissus ou encore supplémenter ou  
5 remplacer un fluide biologique.

L'augmentation du volume tissulaire peut être souhaitée à la fois dans le cas d'applications thérapeutiques et dans un but cosmétique. Elle peut être effectuée par introduction d'une solution viscoélastique à base de produits permanents ou  
10 biodégradables dans les tissus biologiques.

L'injection de solutions viscoélastiques à base de produits permanents ou biodégradables est également envisagée pour remplacer un fluide biologique.

Par exemple, elle est utilisée pour remplacer le liquide synovial naturel qui, chez les patients arthrosiques, ne peut plus assurer ses fonctions chondroprotectrices, de lubrification et d'absorption des chocs compte tenu d'une réduction de la quantité  
15 et de la masse moléculaire des glycosaminoglycanes constitutifs. Mais cette solution viscoélastique, lorsqu'elle est constituée à base de produits biodégradables, est rapidement éliminée de la poche synoviale. Dans le cas d'autres applications thérapeutiques, ce type de solution viscoélastique est utilisé pour certains tissus qui  
20 nécessitent d'être élargis pour assurer leur fonction ; il s'agit par exemple des cordes vocales, de l'œsophage, du sphincter ou de l'urètre.

Dans le cas des applications cosmétiques, ce type de solution viscoélastique est utilisé par exemple, pour le comblement des rides, le masquage des cicatrices, ou l'augmentation du volume des lèvres. L'injection de ces solutions viscoélastiques est  
25 une méthode simple, non invasive, moins risquée et moins onéreuse que la chirurgie esthétique.

L'utilisation de solution viscoélastique à base de produits permanents présente l'avantage d'une très longue rémanence dans les tissus où la solution viscoélastique est injectée.

30 L'injection de silicone a très longtemps été utilisée. Cependant, compte tenu des effets indésirables à long terme de cette méthode, qui se caractérisent par

l'apparition de nodules et d'ulcère de la peau, cette pratique est peu à peu abandonnée.

L'injection de microparticules solides en suspension permet également une augmentation du volume tissulaire permanente. Le brevet US 5,344,452 décrit l'utilisation d'un solide pulvérulent, constitué de petites particules, de diamètre compris entre 10µm et 200µm, et ayant une surface très lisse. Artecoll® et Arteplast®, produits commercialisés, sont constitués d'une suspension de microsphères de polyméthacrylate dans une solution de collagène. Le brevet EP 1 091 775 propose une suspension de fragments d'hydrogel de méthacrylate dans une solution de hyaluronate. Les particules de silicone, céramiques, de carbone ou métalliques (brevets US 5,451,406, US 5,792,478 et demande US2002151466), et les fragments de polytétrafluoroéthylène, de verre ou de polymères synthétiques (demande US2002025340) ont également été utilisées mais les résultats sont décevants. En outre, l'injection de particules au travers d'une aiguille fine peut être difficile si les particules ont un diamètre trop important ou une forme irrégulière qui peut provoquer l'agglutination des particules entre elles. De plus, l'injection de particules fragiles peut endommager leur structure en donnant des particules trop fines qui n'adhèrent pas aux cellules environnantes mais migrent vers d'autres tissus, ou sont rapidement digérées par les macrophages et les autres constituants du système lymphatique.

D'une manière générale, le caractère permanent de ces produits induit des inconvénients majeurs (US 6 436 424) qui sont notamment le risque d'activation des macrophages, la migration des fragments synthétiques constitutifs du produit pouvant provoquer une réaction inflammatoire pouvant même aboutir à l'apparition de granulomes. Le traitement de ces granulomes nécessite alors soit un traitement thérapeutique par injection de stéroïdes soit un traitement chirurgical par excision, ces traitements pouvant avoir des conséquences lourdes sur la santé du patient ou sa qualité de vie. Par conséquent, les effets secondaires des produits permanents sont si néfastes qu'ils découragent l'utilisation de ces produits dans un but purement esthétique. De plus, l'injection de solution viscoélastique à base de produits permanents ne permet pas de retouche si nécessaire.

Parmi les matériaux biologiquement dégradables, il existe des suspensions de collagène ou d'acide hyaluronique réticulé.

Collagen Corporation a développé une préparation à base de collagène réticulé avec du glutaraldéhyde décrite dans le brevet US 4 582 640. Cependant, ce  
5 produit est dégradé rapidement au sein du tissu où il est injecté, par action enzymatique ou chimique et est ensuite éliminé du tissu par le système lymphatique. Le brevet US 5 137 875 propose l'utilisation de suspensions ou solutions aqueuses de collagène contenant de l'acide hyaluronique, mais ce produit ne peut constituer un traitement à long terme car il est également rapidement digéré puis éliminé par le  
10 système lymphatique. Des traitements répétés sont donc nécessaires ce qui engendre un coût considérable et diminue la qualité de vie du patient.

Le brevet EP 0 466 300 propose l'injection d'un gel viscoélastique biphasique composé d'une matrice dispersée dans une phase liquide, les deux phases  
15 étant composées par du hyalan, hyaluronate de haute masse moléculaire d'origine animale, réticulé et extrait. L'utilisation d'un polymère de haute masse moléculaire permet une plus grande rémanence du gel viscoélastique biodégradable dans le tissu. Cette technologie a donné lieu à plusieurs produits sur le marché tels que le Hylaform®, pour le comblement des dépressions de la matrice intercellulaire du tissu conjonctif, ou le Synvisc®, produit de viscosupplémentation pour le traitement de  
20 l'arthrose.

Parmi les produits biodégradables biphasiques, peuvent également être cités Restylane®, Macrolane®, Perlane®, ou Durolane®, autres compositions biphasiques constituées d'une phase fluide (hyaluronate non réticulé) et d'une phase composée d'acide hyaluronique très réticulé. Destinés à l'augmentation du volume tissulaire  
25 (visage, seins) ou au traitement arthrosique, ces produits sont basés sur la technologie NASHA détenue par Q-Med. Dans certains cas, l'utilisation de produits biphasiques pouvait induire des réactions inflammatoires voire engendrer l'apparition de granulomes (Laeschke K. Biocompatibility of microparticles into soft tissues fillers. Congress of Aesthetic Medicine and Dermatologic Surgery, Paris, 2003) même si ces  
30 réactions sont moins observées qu'en présence d'un gel à base de polymères synthétiques. De plus, la phase fluide est très rapidement éliminée, ce qui engendre une perte de matière correspondant au volume de cette phase fluide. Par conséquent,



lorsqu'une augmentation du volume tissulaire est recherchée, de nombreuses retouches sont nécessaires après la première injection, ce qui diminue la qualité de vie de l'utilisateur.

Enfin, plusieurs gels viscoélastiques monophasiques ont été proposés soit  
5 pour homogénéiser le taux de réticulation au sein du gel (demande de brevet US 20030148995), soit pour contrôler la biodégradabilité du gel (US 4 963 666), soit pour contrôler les propriétés viscoélastiques du gel (US 5 827 937). Une forte réticulation des polymères permet une plus grande rémanence dans le tissu du gel viscoélastique biodégradable. Cependant l'injection du gel comportant un tel  
10 polymère fortement réticulé est plus difficile. De plus, l'injection d'un tel gel fragilise mécaniquement les sites non réticulés du polymère qui deviennent plus vulnérables à des attaques biochimiques et enzymatiques, ce qui favorise une dégradation rapide du gel.

L'invention a pour but de proposer un gel réticulé biocompatible qui évite les  
15 inconvénients précités, qui présente les avantages simultanés de mise en œuvre facile dans son utilisation clinique et de durée de vie telle que le gel réticulé biocompatible disparaisse lorsque sa fonction n'est plus souhaitée, mais suffisante pour limiter le nombre d'administrations par actes médicaux ou chirurgicaux.

A cet effet, l'invention a pour objet un procédé de fabrication d'un gel  
20 réticulé biocompatible comportant les étapes :

d'amorçage de la réticulation d'une quantité déterminée d'au moins un polymère biocompatible en solution par l'ajout d'une quantité d'agent réticulant,

de réaction de réticulation de ladite quantité de polymère,

d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère de masse moléculaire  
25 supérieure à 500 000 Da en solution avec dilution du mélange réactionnel de manière à diminuer la concentration globale du polymère en solution, et de réticulation, et

d'arrêt de la réaction de réticulation par élimination de l'agent réticulant.

L'étape d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère permet l'apport des sites réactionnels nouveaux.

Ce procédé permet d'obtenir un gel réticulé biocompatible présentant simultanément les caractéristiques d'être monophasique, polydensifié, cohésif, injectable et à longue rémanence.

5 Par cohésif, on entend une tendance du gel à se regrouper et non à se répandre ou se fragmenter. Le caractère cohésif contribue donc à l'obtention d'une compatibilité élevée et d'une longue rémanence *in vivo* du gel.

Par polydensifié, on entend une variation du degré de réticulation au sein même du gel. Le caractère polydensifié du gel permet à la composition de cumuler les avantages d'injectabilité au travers d'une aiguille de faible diamètre et de longue  
10 rémanence *in vivo* du gel.

Le caractère monophasique permet de réduire les risques de réactions inflammatoires et d'apparition de granulomes.

L'effet de longue rémanence du gel permet d'espacer les actes médicaux et donc d'améliorer la qualité de vie des patients.

15 Un tel gel monophasique polydensifié cohésif obtenu suivant le procédé de la présente invention se caractérise par une injectabilité facilitée et une rémanence *in vivo* supérieure à celle d'un gel monophasique de même composition, dont le taux de réticulation est homogène au sein du gel.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, l'étape d'amorçage de  
20 la réticulation est réalisée en milieu basique.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, l'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée en milieu acide.,

Selon une variante de l'invention, une quantité supplémentaire d'agent réticulant est ajoutée lors de l'étape d'ajout d'une quantité supplémentaire de  
25 polymère.

Préférentiellement, l'étape d'arrêt de la réticulation est réalisée par dialyse. La dialyse assure l'arrêt final de la réaction. Elle élimine l'agent réticulant et les petites chaînes de polymère n'ayant pas réagi.

Avantageusement, les polymères sont d'origine naturelle. L'utilisation de polymères d'origine naturelle permet une meilleure biocompatibilité c'est-à-dire qu'une telle utilisation engendre moins de risques de réaction inflammatoire.

Préférentiellement, les polymères d'origine naturelle sont des composés  
5 choisis dans le groupe constitué par : l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, le  
kératane, le kératane sulfate, l'héparine, l'héparane sulfate, la cellulose et ses dérivés,  
les alginates, le xanthane, la carraghénine, les protéines ou les acides nucléiques.

De manière encore plus avantageuse, au moins un polymère d'origine  
naturelle est un polymère non naturellement présent chez l'être humain choisi dans le  
10 groupe constitué par : la cellulose et ses dérivés, les alginates, le xanthane, la  
carraghénine, polymère qui est réticulé avec au moins un polymère naturellement  
présent chez l'être humain choisi dans le groupe constitué par : l'acide hyaluronique,  
la chondroïtine sulfate, le kératane, le kératane sulfate, l'héparine, l'héparane sulfate,  
les protéines ou les acides nucléiques.

15 Avantageusement, l'agent réticulant est une molécule bi- ou poly-  
fonctionnelle sélectionnée parmi les composants du groupe constitué par les  
époxydes, les épihalohydrines et la divinylsulfone.

L'invention a également pour objet un gel préparé par le procédé  
susmentionné.

20 De manière préférentielle, le gel constitue une matrice comportant au moins  
un principe actif dispersé. Le gel sera alors utilisé comme vecteur permettant une  
libération progressive dudit principe actif au sein du liquide ou du tissu biologique où  
il a été injecté.

Enfin, l'invention a pour objet l'utilisation de ce gel pour séparer, combler  
25 des tissus biologiques ou augmenter le volume desdits tissus ou encore supplémenter  
ou remplacer un fluide biologique.

L'invention sera mieux comprise, et d'autres buts, détails, caractéristiques et  
avantages de celle-ci apparaîtront plus clairement au cours de la description  
explicative détaillée qui va suivre, d'un mode de réalisation de l'invention donné à  
30 titre d'exemple purement illustratif et non limitatif.

Le procédé de fabrication du gel réticulé biocompatible se caractérise par les étapes successives d'amorçage de la réticulation d'une quantité déterminée d'au moins un polymère biocompatible en solution, de réaction de réticulation de ladite quantité de polymère, d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère de masse moléculaire supérieure à 500 000 Da en solution avec dilution du mélange réactionnel de manière à diminuer la concentration globale du polymère en solution, et de réticulation, et d'arrêt de la réaction de réticulation par élimination de l'agent réticulant.

L'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée par l'ajout d'une quantité d'agent réticulant qui est une molécule bi- ou poly-fonctionnelle sélectionnée parmi les composants du groupe constitué par les époxydes, les épihalohydrines et la divinylsulfone. Les époxydes préférés sont les composants choisis dans le groupe constitué par : le 1,4 butanediol diglycidyl éther (aussi appelé 1,4-bis (2,3-époxypropoxy)butane), le 1-(2,3-époxypropyl) 2,3-époxy cyclohexane et le 1,2-éthanediol diglycidyl éther.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, l'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée en milieu basique. La réaction de réticulation effectuée en milieu basique se traduit par la formation de liaisons éther qui sont très solides. La réticulation par éthérification permet une plus longue rémanence *in vivo*.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, l'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée en milieu acide. La réaction de réticulation effectuée en milieu acide se traduit par la formation de liaisons ester qui sont plus labiles que les liaisons éther précédemment citées. Cependant une plus grande labilité des pontages peut présenter certains avantages. Notamment, un tel gel utilisé comme matrice comportant un principe actif dispersé permet une autre cinétique de libération dudit principe actif plus adaptée à certaines applications.

La réaction de réticulation est la réaction qui assure le pontage des chaînes de chaque polymère entre eux. Elle peut être quantifiée par la détermination du taux de réticulation.

Le taux de réticulation est défini comme le rapport entre le nombre de moles d'agent réticulant assurant le pontage des chaînes de chaque polymère et le nombre de moles de motifs du polymère.

La réticulation s'effectue dans une plage de températures préférentielles de  
5 20°C à 60°C.

La réticulation peut s'effectuer sur un même polymère ou sur un mélange de polymères.

Les polymères engagés dans la réaction de réticulation peuvent être synthétiques mais sont avantageusement d'origine naturelle. L'utilisation de  
10 polymères d'origine naturelle permet une meilleure biocompatibilité, c'est-à-dire qu'une telle utilisation engendre moins de risques de réaction inflammatoire.

Préférentiellement, on utilise les polymères d'origine naturelle susmentionnés.

Il est cependant bien évident que l'invention ne se limite pas aux polymères  
15 susmentionnées mais peut utiliser des polymères de nature et de taille différente.

L'étape d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère s'accompagne d'une dilution du milieu réactionnel de sorte que la concentration totale en polymère de la solution diminue.

Dans ces conditions, les chaînes de polymère apportant des sites de  
20 réticulation nouveaux vont réagir avec l'agent de réticulation résiduel et/ou ajouté en faible quantité, en se fixant sur le gel réticulé initial et entre elles avec un plus faible taux de réticulation puisque la quantité d'agent de réticulation a diminué. Le nombre de pontages sur les chaînes de gel formé dans la première étape de réticulation est supérieur au nombre de pontages entre celui-ci et les chaînes ajoutées et au nombre  
25 de pontages entre les chaînes ajoutées. Le degré de réticulation varie donc au sein du gel final qui est constitué de zones fortement réticulées (par exemple avec un taux de réticulation de 25%) associées à des zones externes de moins en moins réticulées (dont le taux de réticulation diminue progressivement et peut atteindre 1%). Cette particularité lui confère propriétés viscoélastiques exceptionnelles qui permettent au  
30 gel, tout en présentant un taux de réticulation important et donc une longue

rémanence *in vivo*, d'être cohésif (un seul et même gel) et injectable au travers de fines aiguilles.

L'ajout de polymères supplémentaires s'effectue à tout niveau d'avancement de la réaction de réticulation initiale, avantageusement à 75% de la réaction de réticulation initiale. Cette étape peut être effectuée par apport de polymère de façon continue ou discontinue.

Les polymères supplémentaires doivent présenter une masse moléculaire supérieure à 500 000 Da. Ils peuvent également être synthétiques ou naturels. Ils peuvent être ajoutés sous forme de mélange de polymères. Ils peuvent être de nature ou de taille identique ou différente de ceux utilisés dans l'étape de réticulation initiale. De manière avantageuse, les polymères supplémentaires ajoutés sont constitués de plus longues chaînes que les polymères présents initialement. Ceci confère au gel une amélioration de sa structure mécanique externe, les longues chaînes étant plus difficilement dégradées que les courtes.

Ce procédé permet par conséquent d'obtenir un gel réticulé biocompatible présentant simultanément les caractéristiques d'être monophasique, polydensifié, cohésif, injectable et à longue rémanence.

Selon un certain mode de réalisation de l'invention, une quantité supplémentaire d'agent réticulant est ajoutée lors de l'étape d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère. Cet agent de réticulation pourra être de nature identique ou différente à celle de celui utilisé lors de la réaction d'amorçage de la réaction. Il est préférentiellement choisi parmi les composants du groupe susmentionné. La quantité ajoutée est nettement inférieure à la quantité ajoutée pour la réticulation initiale.

L'étape d'arrêt de la réaction de réticulation assure l'arrêt final de la réaction. Elle est par exemple réalisée par dialyse qui permet d'éliminer l'agent réticulant et les petites chaînes de polymère n'ayant pas réagi. En effet l'injection d'un gel comportant un tel agent induit des réactions inflammatoires car ces agents sont des composants chimiques difficilement assimilables et très réactifs.

De manière préférentielle, le gel constitue une matrice comportant au moins un principe actif dispersé. Le gel est alors utilisé comme vecteur permettant une

libération progressive dudit principe actif au sein du liquide ou du tissu biologique où il a été injecté. Le principe actif est un agent pharmacologiquement actif pouvant être par exemple un agent anti-oxydant. Le principe actif peut également être de nature différente. Un mélange de principes actifs de nature différente peut également être  
5 dispersé dans le gel.

Ce gel est préférablement injecté.

Enfin, le gel est avantageusement utilisé pour séparer, combler des tissus biologiques ou augmenter le volume desdits tissus par exemple dans le cas d'applications thérapeutiques (augmentation du volume des cordes vocales, de  
10 l'œsophage, du sphincter, de l'urètre ou d'autres organes) ou dans un but cosmétique pour le comblement des rides, le masquage des cicatrices, ou l'augmentation du volume des lèvres.

Il peut également supplémer ou remplacer un fluide biologique, par exemple le liquide synovial naturel.

15 Des exemples sont proposés afin d'illustrer l'invention mais ne sont nullement limitatifs de l'invention.

#### Exemple 1 (comparatif)

20 10 g d'acide hyaluronique ( $MM=2 \times 10^6 Da$ ) sont dilués dans 100 ml d'une solution de NaOH à 1%. L'acide hyaluronique est hydraté par cette étape préalable à la réticulation.

Le tout est homogénéisé dans un mélangeur jusqu'à ce qu'une solution transparente soit obtenue.

25 La réaction de réticulation est alors amorcée par ajout de 470  $\mu l$  de 1,4-butanediol diglycidyl éther (BDDE) à la solution et le tout est mélangé pendant 15 h à 25°C, dans une atmosphère privée d'oxygène.

Le pH est réajusté au pH physiologique à l'aide d'HCl 1M. Le volume est ajusté à 400 ml à l'aide d'une solution tamponnée à pH=7.

Le gel obtenu est ensuite dialysé pendant 24 h (cellulose régénérée, limite de séparation : MM=60 kDa) contre une solution tamponnée à pH=7 (Gel I).

Ce gel a une teneur en acide hyaluronique totale de 2,5% en masse.

5      Exemple 2 (comparatif)

Le gel est ici réalisé de la même manière que dans l'exemple 1 sauf qu'une quantité plus importante d'agent réticulant est ajoutée.

10      10 g d'acide hyaluronique (MM=2x10<sup>6</sup>Da) sont dilués dans 100 ml d'une solution de NaOH à 1%.

Le tout est homogénéisé dans un mélangeur jusqu'à ce qu'une solution transparente soit obtenue.

15      760 µl de 1,4-butanediol diglycidyl éther (BDDE) sont ensuite ajoutés à la solution et le tout est mélangé pendant 15 h à 25°C, dans une atmosphère privée d'oxygène.

Le pH est réajusté au pH physiologique à l'aide d'HCl 1M.

Le volume est ajusté à 400 ml à l'aide d'une solution tamponnée à pH=7.

Le gel obtenu est ensuite dialysé pendant 24 h (cellulose régénérée, limite de séparation : MM=60 kDa) contre une solution tamponnée à pH=7 (Gel II).

20      Ce gel a une teneur en acide hyaluronique totale de 2,5% en masse.

Exemple 3 (comparatif)

25      Le gel est ici réalisé de la même manière que dans les exemples 1 ou 2 sauf qu'une quantité encore plus importante d'agent réticulant est ajoutée.

10 g d'acide hyaluronique (MM=2x10<sup>6</sup>Da) sont dilués dans 100 ml d'une solution de NaOH à 1%.



Le tout est homogénéisé dans un mélangeur jusqu'à ce qu'une solution transparente soit obtenue.

950  $\mu$ l de 1,4-butanediol diglycidyl éther (BDDE) sont ensuite ajoutés à la solution et le tout est mélangé pendant 15 h à 25°C, dans une atmosphère privée  
5 d'oxygène.

Le pH est réajusté au pH physiologique à l'aide d'HCl 1M.

Le volume est ajusté à 400 ml à l'aide d'une solution tamponnée à pH=7 et l'ensemble est homogénéisé.

Le gel obtenu est ensuite dialysé pendant 24 h (cellulose régénérée, limite de  
10 séparation : MM=60 kDa) contre une solution tamponnée à pH=7 (Gel III).

Ce gel a une teneur en acide hyaluronique totale de 2,5% en masse.

#### Exemple 4 (selon l'invention)

15 10 g d'acide hyaluronique (MM= $2 \times 10^6$ Da) sont dilués dans 100 ml d'une solution de NaOH à 1%.

Le tout est homogénéisé dans un mélangeur jusqu'à ce qu'une solution transparente soit obtenue.

La réaction de réticulation est amorcée par l'ajout de 950  $\mu$ l de 1,4-butanediol  
20 diglycidyl éther (BDDE) sont ensuite ajoutés à la solution et le tout est mélangé pendant 9 h à 25°C, dans une atmosphère privée d'oxygène.

Puis, un polymère supplémentaire est ajouté tout en ajustant le volume à 300 ml à l'aide d'une solution d'acide hyaluronique 0,5% pH=11 (MM= $2 \times 10^6$ Da).

La réaction continue encore 6 h. Le pH est réajusté au pH physiologique à  
25 l'aide d'HCl 1M et le volume ajusté à 400 ml.

L'ensemble est homogénéisé.

Afin d'arrêter définitivement la réaction de réticulation, le gel obtenu est ensuite dialysé pendant 24 h (cellulose régénérée, limite de séparation : MM=60 kDa) contre une solution tamponnée à pH=7 (Gel IV).

Seul ce dernier gel est réalisé selon l'invention, les trois autres types de gel étant réalisés selon l'état de la technique, c'est-à-dire avec une réticulation uniforme.

Ce gel a une teneur en acide hyaluronique totale de 2,75% en masse.

- 5 Une étude rhéologique a été réalisée sur les gels présentés dans les exemples 1 à 4.

Cette étude consiste en la mesure de la force limite d'extrusion (F) d'un gel c'est-à-dire la force à partir de laquelle le gel peut être extrudé.

- Pour cela, le gel est contenu dans un cylindre en acier inoxydable de 2,5 cm  
10 de diamètre et extrudé au travers d'un pore de 0,2mm de diamètre.

Les résultats obtenus sont présentés par le tableau suivant :

Type de gel	F (N/mm <sup>2</sup> ) $\sigma=0,15\text{N/mm}^2$
I	3,56
II	5,85
III	7,40
IV	6,12

$\sigma$ : écart type

- 15 Les gels I, II et III représentent des gels dont le taux de réticulation est constant dans le gel. Seul le gel IV présente un gel dont le taux de réticulation est variable.

- Cette méthode met en évidence tout d'abord qu'un ajout croissant d'agent réticulant (entre les gels de type I à III) se traduit par une force limite d'extrusion également plus importante, c'est-à-dire que la force à appliquer pour extruder un gel  
20 à taux de réticulation croissant augmente pour les gels présentant un taux de réticulation homogène.

Le gel de type IV (gel selon l'invention) à 2,75% en masse d'acide hyaluronique s'injecte quasi aussi facilement qu'un gel à 2,5% en masse d'acide



hyaluronique de taux de réticulation plus faible et homogène (gel de type II) et plus facilement (avec une force F 15% plus faible) qu'un gel à 2,5% en masse d'acide hyaluronique dont le taux de réticulation est identique mais homogène (gel de type III).

- 5 Par conséquent, cet exemple prouve qu'un gel selon l'invention, dont le taux de réticulation est hétérogène, permet, à un taux de réticulation important, et donc de rémanence *in vivo* importante, d'être facilement extrudé par des dispositifs de type aiguille fine.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de fabrication d'un gel réticulé biocompatible comportant les étapes :

5 d'amorçage de la réticulation d'une quantité déterminée d'au moins un polymère biocompatible en solution par l'ajout d'une quantité d'agent réticulant,

de réaction de réticulation de ladite quantité de polymère,

10 d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère de masse moléculaire supérieure à 500 000 Da en solution avec dilution du mélange réactionnel du mélange réactionnel de manière à diminuer la concentration globale du polymère en solution, et de réticulation, et

d'arrêt de la réaction de réticulation par élimination de l'agent réticulant.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée en milieu basique.

15 3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'étape d'amorçage de la réticulation est réalisée en milieu acide.,

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'une quantité supplémentaire d'agent réticulant est ajoutée lors de l'étape d'ajout d'une quantité supplémentaire de polymère.

20 5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'étape d'arrêt de la réticulation est réalisée par dialyse.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les polymères sont d'origine naturelle.

25 7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que les polymères d'origine naturelle sont des composés choisis dans le groupe constitué par : l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, le kératane, le kératane sulfate, l'héparine, l'héparane sulfate, la cellulose et ses dérivés, les alginates, le xanthane, la carraghénine, les protéines ou les acides nucléiques.

8. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'au moins un polymère d'origine naturelle est un polymère non naturellement présent chez l'être

humain choisi dans le groupe constitué par : la cellulose et ses dérivés, les alginates, le xanthane, la carraghénine, polymère qui est réticulé avec au moins un polymère naturellement présent chez l'être humain choisi dans le groupe constitué par : l'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate, le kératane, le kératane sulfate, l'héparine, l'héparane sulfate, les protéines ou les acides nucléiques.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'agent réticulant est une molécule bi- ou poly-fonctionnelle sélectionnée parmi les composants du groupe constitué par les époxydes, les épihalohydrines et la divinylsulfone.

10. Gel préparé par le procédé selon l'une des revendications 1 à 9.

11. Gel selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il constitue un gel comportant au moins un principe actif dispersé.

12. Utilisation du gel selon la revendication 10 ou 11, pour séparer, combler des tissus biologiques ou augmenter le volume desdits tissus ou encore compléter ou remplacer un fluide biologique.



# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

  
N° 11235\*03

## DÉPARTEMENT DES BREVETS

 26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
 75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

## DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1../1..

 (À fournir dans le cas où les demandeurs et  
 les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)


Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>		A033706 MGLC
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		0400987
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)		
"Gel réticulé biocompatible"		
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>		
ANTEIS SA chemin des Aux 18 c/o Fondation Genevoise pour l'innovation Technologique FONGIT CH-1228 PLAN-LES-OUATES Genève Suisse		
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b>		
<b>1</b>	Nom	HERMITTE
	Prénoms	Laurence
Adresse	Rue	19 avenue André Chamson Résidence St Jean
	Code postal et ville	1 3 0 8 0 LUYNES
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>2</b>	Nom	BENOIT
	Prénoms	Olivier
Adresse	Rue	2 bis, rue Paul Guiton
	Code postal et ville	7 4 0 0 0 ANNECY
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>3</b>	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b> <b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b> <b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)		
HERMITTE Laurence Directeur R&D Anteis		

